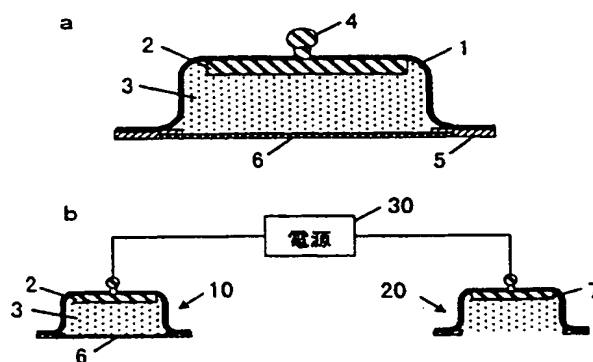


(51) 国際特許分類6 A61B 5/00	A1	(11) 国際公開番号 WO99/63885 (43) 国際公開日 1999年12月16日(16.12.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/02623 (22) 国際出願日 1999年5月19日(19.05.99) (30) 優先権データ 特願平10/174024 1998年6月5日(05.06.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 久光製薬株式会社 (HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC.)[JP/JP] 〒841-0017 佐賀県鳥栖市田代大官町408番地 Saga, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてののみ) 肥後成人(HIGO, Naruhito)[JP/JP] 安達博敏(ADACHI, Hirotoshi)[JP/JP] 葛巻紀行(KUZUMAKI, Noriyuki)[JP/JP] 〒305-0856 茨城県つくば市観音台1丁目25番11号 久光製薬株式会社 筑波研究所内 Ibaraki, (JP) (74) 代理人 田中 清, 外(TANAKA, Kiyoshi et al.) 〒150-0013 東京都渋谷区恵比寿4丁目20番2号 恵比寿ガーデンテラス式番館709 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 CN, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title: IONTOPHORESIS DEVICE STRUCTURAL BODY AND METHOD FOR DETECTING IN-VIVO COMPONENT

(54) 発明の名称 イオントフォレーシスデバイス構造体及び生体内成分の検出方法



30 ... POWER SUPPLY

(57) Abstract

An iontophoresis device structural body and method for detecting an in-vivo component rapidly with high sensitivity. In this structural body, an electrode (2) is provided at the bottom of a backing (1) having a recess, and a conductive layer (3) is provided in the recess. A connection terminal (4) connectable to a power source is attached to the electrode (2) through a small hole made in the bottom of the backing (1). The structural body has a detecting member (6) for absorbing an in-vivo component. The detecting member (6) is stuck on an adhesive sheet (5) having an opening in a position corresponding to the detecting member (6). When starting iontophoresis, the detecting member (6) is brought into contact with the skin or mucous membrane.

生体内成分を迅速かつ高感度に検出可能なイオントフォレーシスデバイス構造体及び検出方法である。この構造体では、くぼみを有するバックキング(1)の底部に電極(2)が設けられ、くぼみ部分には導電層(3)が配置される。電極(2)には、電源と接続可能なようにバックキング(1)の底部に開けた小孔を介して接続端子(4)が取り付けられる。この構造体に、生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材(6)を配置する。検出用部材(6)は予めその対応する部分に開口を設けた粘着性シート(5)に貼付される。イオントフォレーシス開始時に、検出用部材(6)が皮膚又は粘膜に接触するようにして用いられる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RJ	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SK	スロヴァキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TZ	タンザニア
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TR	トルコ
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	US	米国
CM	カメルーン	IN	インド	NE	ニジェール	UZ	ウズベキスタン
CN	中国	IS	アイスランド	NL	オランダ	VN	ヴェトナム
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NO	ノルウェー	YU	ユーゴスラビア
CJ	キューバ	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KE	ケニア	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェッコ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DK	デンマーク	KR	韓国				

明 細 書

イオントフォレーシスデバイス構造体及び生体内成分の検出方法

5 技術分野

本発明は、医療分野において診断又は検査に用いるのに好適なイオントフォレーシスデバイス構造体及び生体内成分の検出方法に関する。

背景技術

- 10 従来より、病気の診断には種々の方法が使用されている。例えば、血液生化学検査法では、侵襲的に採血して、血液成分、各種診断マーカー、細胞等を分析することにより診断し、病理検査法では、侵襲的に癌組織等の生体組織検査をおこなったり、細胞レベルの異常の有無を検討し、また、採尿、採便、蓄唾等により採取した尿、便、唾液等を分析することによる検査が行われている。これらの方法では、医師、看護婦、臨床検査技師が注射器で血液等を採取したり、鋭利なメスにて生体組織を切り取ったり、また特殊容器等に患者の協力を得て尿等を採取したりしているのが現状である。

- 20 尚、腫瘍、特に悪性黒色腫は、予後が極めて悪く、浸潤破壊能及び転移能とも極めて高い疾病であり、一旦転移または再発すると、その治療は困難を極めるため、新しい治療手段の開発が待たれている。この悪性黒色腫の確定診断は、外科的に切除した組織中のメラノーマ細胞等の腫瘍マーカーの存在の有無を検査することにより行われている。その検査方法としては、手術直後に病巣断面より作成したスタンプ・スメアを用いるスタンプ蛍光法及び病巣組織を用いた免疫染色法が用いられている。
- 25 組織染色には、各種のメラノーママーカー抗体（抗メラノーマ抗体）が

使用されている。

しかしながら、このように細胞を外科的に切除することは、患者に痛みや恐怖心を与えるばかりか、腫瘍の転移の危険性を増すこととなるので望ましくない。また、試料の採取は、特定の場所において、熟練した
5 医師により行わなければならないため、集団検診等でのスクリーニング法には適していない。尚、血清中及び尿中の 5-S-システイニルドーパ等のドーパや腫瘍マーカー等を測定する方法も症状が悪化した段階における疾病の進行度や転移の有無等の病状の指標とはなるものの、早期診断法としては適当でない。このような状況下において、従来の検査に
10 において必要とされていた高度の熟練と経験をさほど必要とせず、しかも安全に、早期に腫瘍等の診断を行うことができる方法の開発が待たれている。

一方、従来より、貼付剤として、サリチル酸系の消炎鎮痛剤やニトログリセリン等の狭心症治療剤等の医薬品を含有する医療用貼付剤、刺激
15 性試験のためのパッチテスト及びアレルギー性皮膚炎等の感作物質を特定するためのアレルゲン検出用貼付剤が知られている。特開昭 63-106558 号公報には、粘着性物質に皮膚角質層を付着せしめた後、固着剤を塗布した透明板に張り付け、次いで有機溶媒に浸漬して前期粘着物質を溶解して除去することにより、前記角質層を前記透明板に固定す
20 ることからなる角質層標本の作成方法が開示されている。また、同じ出願人による特開昭 63-113358 号公報には、前記角質層標本を使用して角質層の状態を検査する方法が開示されており、そこで実施されている検査は主に角質層の物性を測定する検査である。さらに、同じ出願人による特開平 4-121664 号公報には、角質層を粘着性フィルムにより剥離、転写し、次いで有機溶媒により洗浄して、角質層中に含
25 まれる脂質を抽出し、その脂質を分析する方法が開示されている。

しかしながら、前記特開昭 6 3 - 1 0 6 5 5 8 号公報及び同 6 3 - 1 1 3 3 5 8 号公報による方法では、剥離された角質細胞を固定するために、有機溶媒等で粘着層を溶解する必要がある。このため、有機溶媒に対し不安定な物質については検査することができない。また、角質層脂

5 質等のように有機溶媒により抽出されるものは角質層標本中に存在しないことになり、角質層を皮膚に存在していた状態と同じ状態で検査することは不可能である。また、前記特開平 4 - 1 2 1 6 6 4 号公報の方法では、有機溶媒により抽出されないものは分析することが不可能である。

また特開平 7 - 7 6 5 1 8 号公報には、粘着性テープ等で剥離固定し

10 た組織、細胞若しくはその他の物質または担体に吸着固定された組織若しくは細胞から分泌される物質等を、免疫学的方法等で測定して病気を診断する方法が開示されている。この方法は、腫瘍、特に悪性黒色腫の初期において、組織等の外科的切除を必要とせず、しかも患者に痛み、恐怖心等を与えることなく生体組織、細胞、あるいはそれらからの分泌物

15 等を採取して、腫瘍を診断することができる。

一方、イオントフォレーシスは外的刺激に電氣を用いた経皮吸収促進システムで、その原理は主に通電により陽極および陰極間に生じた電界中を正にチャージした分子が陽極から出て陰極へ、負にチャージした分子が陰極から出て陽極へ移動する力に基づいて、薬物分子の皮膚バリア

20 ー透過を促進するものである。〔ジャーナル・オブ・コントロールド・リリース (Journal of Controlled Release) 18 巻、1992 年、213 - 220 頁；アドバンスド・ドラッグ・デリバリー・レビュー (Advanced Drug Delivery Review) 9 巻、1992 年、119 頁；ファルマシューウ

25 ティカル・リサーチ (Pharmaceutical Research) 3 巻、1986 年、318 - 326 頁参照〕。

このようなイオントフォレーシスを利用した診断への応用例としては、
囊胞性繊維症の診断を目的としたピロカルピンの投与が知られている
((J. Pediatr) 69巻、1966年、285頁; (South Med. J.) 59巻、1966年、197頁; (Arch.
5 Dis. Child) 40巻、1965年、684頁)。また近年、糖
尿病患者の自己血糖測定のために、非侵襲的なイオントフォレーシス
を用いた血液中のグルコースをモニタリングする技術が提案されている
(国際公開番号WO 96/00110号公報、ファルマシューティカ
ル・リサーチ (Pharmaceutical Research) 1
10 2巻、1995年、1869-1873頁、ジャーナル・オブ・コント
ロールド・リリース (Journal of Controlled R
elease) 38巻、1996年、159-165頁、同誌、42巻、
1996年、29-36頁参照)。この方法は、イオントフォレーシス
によって生じるコンベクティブ・フローにより、血液から漏出するグル
15 コースをデバイス中に設置した溶液層に移動させてサンプリングするも
のである。

従来の方法のうち、粘着性テープ等を用いる方法では、特に生体組織
および細胞からの分泌物、すなわちペプチドやタンパクなどの高分子物
質を採取する場合には、長時間の貼付が必要でありコンプライアンスの
20 点で満足とは言えない。さらに、長時間の貼付による皮膚刺激性も懸念
され、これは患者に違和感や不快感を与えることになる。また、この方
法のように測定物質の受動的拡散のみに依存する場合、個体間のバラツ
キが大きくなり、誤った診断をする原因となることから、性能面でもま
だ十分とは言えない。

25 また従来において、イオントフォレーシスを用いる方法では、低分子
物質の検出は可能であるが、ペプチドやタンパクなどの高分子物質を検

出する場合には、測定物質の回収のために複雑な操作を必要とするばかりでなく、それらがサンプリング溶液中で希釈されることから測定感度においても実用性に乏しい。

このように従来は、目的物質等を迅速かつ高感度に検出し得るデバイスや検出方法は存在しなかった。そのため、病気の種類によっては、短時間5 に正確な診断を行うことができないという問題があった。

従って本発明の目的は、生体内成分を迅速かつ高感度に検出し得るイオントフォレーシスデバイス構造体及び検出方法を提供することにある。

10 発明の開示

本発明者等は、上記目的を達成するために、イオントフォレーシスデバイスの構造について鋭意研究を行ってきた。その結果、デバイス構造として、生体内成分を好適に吸着するよう構成された検出用部材を用いることにより、上述の課題を解決できることを見出した。

15 具体的には、例えば、腫瘍等の病気の診断の場合、腫瘍等のマーカーとなる蛋白質、ペプチド、ヌクレオチド等に高い吸着性を示す検出用部材を配した診断用デバイス構造体を用いてイオントフォレーシスを行う。そして、生体内成分を電氣的駆動力により検出用部材に吸着固定させ、その後デバイスから検出用部材を剥離し吸着固定された腫瘍関連抗原、
20 腫瘍マーカーまたは腫瘍関連物質を免疫学的方法または化学的方法等により測定する。

即ち本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体は、イオントフォレーシス用の電極と、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材と、前記電極と検出用部材の間に配置された導電層とを含むものである。ここで検出用部材は、例えば、多孔質膜からなり、その蛋白質吸着能は1 cm² 当たり20 μg 以上という
25

高い吸着性を示すものである。また、検出用部材の厚さは5～200 μ mとするのが望ましい。

- また検出用部材は、生体内成分として、生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つを吸着するよう構成される。あるいは、生体組織、
- 5 血液及び細胞のうちの少なくとも一つから分泌される物質を吸着するよう構成される。ここで分泌される物質は、例えばペプチド又は蛋白質である。

- さらに検出用部材は、腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質を吸着するよう構成される。ここで腫瘍関連抗原、腫瘍マ
- 10 ーカー、又はその他の腫瘍関連物質とは、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（NK1/C3）、メラノーママーカー（PAL/M1）、メラノーママーカー（S-100 α 及び β ）、癌胎児性抗原（CEA）、神経芽腫（CE7）、神経芽腫（AD2）、マリグニン、 α -胎児性蛋白（AFP）、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白（BFP）、膀胱癌胎児性
- 15 抗原（POA）、胎児性プレアルブミン（EPA）、炭水化物抗原（CA19-9）、膀胱癌関連抗原（CA50）、癌抗原（CSLEX-1）、膀胱癌関連抗原（シアリルSSEA-1）、膀胱癌関連抗原（Dupan-2）、癌抗原（NCC-ST-439）、炭水化物抗原（シアリルTn）、癌抗原（CA72-4）、癌抗原（KMO-1）、膀胱癌関連抗原（SP
- 20 an-1）、炭水化物抗原（CA125）、癌抗原（CA15-3）、扁平細胞癌（SCC）、セミノ蛋白（ γ -Sm）、前立腺特異抗原（PAP）、フェリチン、組織ポリペプチド抗原（TPA）、腫瘍関連抗原（CYFRA-21-1）、免疫酸性蛋白（IAP）、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白（PAP）、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）、
- 25 絨毛性ゴナドトロピン（hCG）、酵素、アミノ酸、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類からなる群から選択されるも

のである。

本発明に係るイオントフォレーシス用アプリーケーターは、くぼみを有するバックキングと、バックキングのくぼみ底部に配置された電極と、バックキングのくぼみ上部に配置された生体内成分検出用部材と、電極と生体内成分検出用部材間に配置された導電層とを備えて構成される。生体内成分検出用部材に対応する部分には、開口を有する粘着性シートが備えられる。

本発明に係る生体内成分の検出方法では、イオントフォレーシスを用いて生体内成分を検出用部材に吸着させ、この検出用部材に吸着された生体内成分を免疫学的方法または化学的方法により検出する。この検出は、生体内成分の染色または測定により行われる。

本発明に係るイオントフォレーシスシステムは、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材、デバイス用電極、及びデバイス用電極と検出用部材の間に配置された導電層を含むイオントフォレーシスデバイスと、デバイス用電極に対応して設けられる対照電極を含む対照デバイスと、上述のデバイス用電極と対照電極との間を電氣的に接続する電源とを備えて構成される。ここで検出用部材は、例えば、平均孔径 $0.001 \sim 20 \mu m$ の多孔質構造を有するものである。

これにより本発明のイオントフォレーシスデバイスは、生体内成分を迅速かつ高感度に検出することができ、各種病気の診断に極めて有用である。

図面の簡単な説明

第1図(a)は、本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体を備えたアプリーケーターの一例を示す断面図、(b)は本発明に係るイ

オントフォレーシスシステムの一例を示す概念図である。

第2図は、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミンの吸着性を示すグラフである。

第3図は、診断用デバイスに使用する検出用部材に対するヒトインスリンの吸着性を示すグラフである。

第4図(a)～(d)は、それぞれ検出用部材におけるヒト癌胎児性抗原の免疫学的染色の結果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、図面を参照しながら本発明を詳細に説明する。

本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体は、イオントフォレーシス用電極と、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材と、イオントフォレーシス用電極と検出用部材の間に配置された導電層とを含むものである。そして、皮膚または粘
膜に対して適用可能な種々のアプリーケーターを用いて、イオントフォレーシスにより移動した生体内成分を免疫学的方法または化学的方法により検出する。

第1図(a)は、本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体を備えたアプリーケーターの一例を示す断面図である。図のように、バック
キング1は円筒状のくぼみを形成している。バックキング1としては、例えばポリプロピレン製で内径が18mmのものが用いられる。バック
キング1の底部には、円形に打ち抜いた箔型銀電極2が設けられる。箔型銀電極2は、例えば直径が10mm、厚さが0.04mmである。バック
キング1のくぼみ部分には、導電層3として電解質層が配置される。また
箔型銀電極2には、電源と接続可能なようにバックキング1の中心部に開
けた小孔を介して接続端子4が取り付けられている。このようにして構

成されたデバイスに、生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材 6 を配置する。検出用部材 6 の材料等については後で詳述するが、例えば直径 20 mm、厚さ 0.016 mm の親水性ナイロン膜が用いられる。検出用部材 6 は、予め、その直径よりも若干小さい直径 18 mm の開口を有する粘着性シート 5 に貼付されており、イオントフォレーシス開始時に、検出用部材 6 が皮膚又は粘膜に接触するようにして用いられる。

本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体の形態は、いずれの形態であってもよく、例えば、長方形、丸形、楕円形、正方形、ハート形、ヒシ形等を挙げることができるが、これらに限定されない。また、
10 大きさ、色も実用性を伴うものであれば特に限定されない。

本発明におけるイオントフォレーシスの通電は、第 1 図 (b) に示すように、デバイス 10 の電極 2 とこれと対応して設けられる対照デバイス 20 の対照電極 7 との間に、電源 30 を用いて直流電圧を印加することにより行うことができる。電源としては、連続直流電圧またはパルス
15 直流電圧を印加し得るものがよいが、より好ましいものとして方形型パルス直流電圧を印加し得るものが用いられる。パルス直流電圧の周波数は、好ましくは 0.1 から 200 kHz、より好ましくは 1 から 100 kHz、特に好ましくは 5 から 80 kHz の範囲より適宜選択される。パルス直流電圧のオン／オフ (on/off) の比は、1/100 から
20 20/1、好ましくは 1/50 から 15/1、より好ましくは 1/30 から 10/1 の範囲より適宜選択される。通電時間は連続通電で 24 時間以下、さらに 12 時間以下、特に 6 時間以下が好ましい。

このようなイオントフォレーシス装置において、例えば、検出物質が等電点 4 付近のタンパクであれば、皮膚や粘膜などの生体内においては
25 負の電荷を持ち、イオントフォレーシスの適用においては陽極側に移動することになる。よって、検出用デバイスは陽極側に配置することになる。

る。そして、イオントフォレーシスデバイスに通電後、検出用部材に吸着固定された生体組織、血液および細胞、若くはこれらから分泌される物質等を免疫学的方法または化学的方法等により検出する。

本発明に係るデバイス構造体において、その構造体を補強する方法、すなわちバックリングは、電気的な絶縁体もしくは絶縁処理を施したものであれば特に限定されないが、塩化ビニル、ポリエチレン、ポリオレフィン、ポリエステル、ポリウレタン、ポリビニルアルコール、塩化ビニリデンポリアミド及びエチレン-酢酸ビニル共重合体等のプラスチック性フィルムまたはアルミニウムを含むラミネートフィルム等を用いたものが好適に使用される。バックリングの厚さは、特に限定されないが、約 $1\ \mu\text{m} \sim 5000\ \mu\text{m}$ 、特に約 $10\ \mu\text{m} \sim 600\ \mu\text{m}$ であることが好ましい。

本発明において使用される電極は、通常イオントフォレーシスにおいて使用できる導電性の電極材料であれば特に限定されない。このような導電材料としては、例えば、銀、塩化銀、アルミニウム、亜鉛、銅、鉄、カーボン、白金、チタン、ステンレス等が挙げられる。中でも、銀または銀・塩化銀は抵抗値等の電気特性もよく、ペースト材料を用いて製造すれば安価で生産性も高い。

本発明におけるデバイス構造体中の導電層に関しては、特に限定されない。一般に、生理的に皮膚あるいは粘膜等の貼付部位への刺激性が少ない成分組成及びpH範囲で使用する事が望ましいが、イオントフォレーシスにより検出物質を診断用デバイスに移動させるために、検出物質、すなわち、マーカー蛋白質、ペプチド等の等電点を配慮した電解質組成及びpHの使用がより望ましい。さらに本発明に使用される導電層の保持方法としては、ゲル型や溶液型として代表されるマトリックス型やリザーバー型等は特に限定されるものではない。このようなマトリッ

クス型の導電性ゲルとしては、例えば寒天、ゼラチン、キサンタンガム、ローカストビーンガム、カラギーナン、ジェランガム、タマリンドガム、カードラン、ペクチン、ファーセララン、グアーガム、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、タラガム、カラヤガム、セルロース、その誘導体
5 類等、ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリイソブチレン等の合成高分子類および共重合体等が挙げられ、これらは単独または2種類以上の組み合わせで用いられる。さらに溶液型として代表されるリザーバー型の電解質保持手段としては、種々の多孔質または毛細管構造を有する部材（以下、単に、多孔質体という場合がある）
10 らが用いられる。このような多孔質体としては、有機多孔質体（例えば、セルロースなどの天然繊維、セルロースアセテートなどの半合成繊維、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエステルなどの合成繊維などで形成された繊維集合体、紙などのシート、織布や不織布などの布、多孔質ポリプロピレン、多孔質ポリスチレン、多孔質ポリメタ
15 クリル酸メチル、多孔質ナイロン、多孔質ポリスルフォン、多孔質フッ素樹脂等の多孔質合成樹脂、スポンジ等の吸水性樹脂等）及び無機多孔質体（例えば、セラミック多孔体、多孔質又は毛細管構造を有するセラミック等）などが用いられる。これらの各保持手段には、必要に応じて電解質、pH調節剤、安定化剤、増粘剤、湿潤剤、界面活性剤、溶解補
20 助剤等を添加、含侵させてもよい。

本発明に係るデバイス構造体の検出用部材は、生体組織、血液あるいは細胞またはこれらから分泌される物質等を吸着固定させることができるものであり、電場をかけた際にもその吸着力が維持されることがより好ましい。また、検出用部材は、親水性であり、蛋白質、ペプチド等
25 に対して高い吸着性質を持ち、吸着固定した物質を検出するために使用する水、アルコール、ホルムアルデヒド等に対して安定で、それら溶液中

において検出用部材から脱離、溶解しないものであることが望ましい。

このような検出用部材としては特に限定されないが、蛋白質、ペプチド等に高吸着能の多孔質または毛細管構造を有する種々の親水性多孔質体または親水処理を施した疎水性多孔質体を用いられる。

- 5 好ましい検出用部材としては、有機多孔質体（例えば、セルロース等の天然繊維、ニトロセルロースやセルロースアセテート等の半合成繊維、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエステル等の合成繊維等で形成された繊維集合体、紙等のシート、織布や不織布などの布、多孔質ポリプロピレン、多孔質ポリスチレン、多孔質ポリメタクリル酸メ
- 10 チル、多孔質ナイロン、多孔質ポリスルホン、多孔質フッ素樹脂、多孔質ポリビニリデンジフロライド等の多孔質合成樹脂等）を挙げることができる。

- 本発明で用いられる検出用部材は、蛋白質、ペプチド等に対して高い吸着性を示し、その吸着量も大きいという特色がある。検出用部材に対する蛋白質の吸着量としては 1 cm^2 当たり $20 \mu\text{g}$ 以上であること、
- 15 好ましくは 1 cm^2 当たり $40 \mu\text{g}$ 以上であること、さらに好ましくは 1 cm^2 当たり $50 \mu\text{g}$ 以上であることが望ましい。なお、蛋白質の吸着量は、代表的な蛋白質を用いて簡便に測定できる慣用の方法、例えば ^{125}I で標識した牛血清アルブミンあるいはヒトインスリンをトレーサ
- 20 一量含有する溶液（蛋白質濃度として 1 mg/ml リン酸塩緩衝液） $400 \mu\text{l}$ に 1.3 cm^2 の検出用部材を室温下、90分間浸漬した後、リン酸塩緩衝液で洗浄し、残存放射活性を測定することにより算出することができる。また、目的とする検出物質を用いて吸着量を算出してもよい。

- 25 これら検出用部材は多孔質構造を有し、その細孔径は、検出物質の保持量や目的物質の測定において検出性能を損なわなければ、生体に当接

可能な範囲から選択でき、例えば平均孔径 $0.001 \sim 20 \mu\text{m}$ 、好ましくは $0.01 \sim 10 \mu\text{m}$ 、さらに好ましくは $0.01 \sim 1 \mu\text{m}$ 程度である。

また、検出用部材の厚みは、検出物質の保持量や目的物質の測定において検出性能を損なわなければ、生体に当接可能な範囲から選択でき、
5 約 $0.1 \sim 500 \mu\text{m}$ 、好ましくは約 $1 \sim 300 \mu\text{m}$ 、さらに好ましくは約 $5 \sim 200 \mu\text{m}$ 程度が望ましい。

次に、本発明に係る検査方法について説明する。本発明のデバイス構造体により、検出用部材に吸着固定される生体組織、血液、あるいは細胞、またはそれらから分泌される物質は、腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー
10 またはその他の腫瘍関連物質等であり、この検出用部材を免疫学的方法または化学的方法により染色あるいは測定することにより、腫瘍等の診断が可能となる。本発明のデバイス構造体及び検査方法により検出することができる腫瘍の例としては、皮膚癌、口腔癌、乳癌及び直腸癌等を
15 挙げることができる。皮膚癌の例としては、悪性黒色腫、基底細胞癌、偏平上皮癌等を挙げることができ、口腔癌の例としては、舌癌、頬粘膜癌、喉頭癌等を挙げるができる。

また、上記の腫瘍関連抗原、腫瘍マーカーまたその他の腫瘍関連物質は、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（NKI/C3）、メラノーママーカー（PAL/M1）、メラノーママーカー（S-100 α 及び
20 β ）、癌胎児性抗原（CEA）、神経芽腫（CE7）、神経芽腫（AD2）、マリグニン、 α -胎児性蛋白（AFP）、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白（BFP）、睪癌胎児性抗原（POA）、胎児性プレアルブミン（EPA）、炭水化物抗原（CA19-9）、睪癌関連抗原（CA
25 50）、癌抗原（CSLEX-1）、睪癌関連抗原（シアリルSSEA-1）、睪癌関連抗原（Dupan-2）、癌抗原（NCC-ST-4

39)、炭水化物抗原(シアリルTn)、癌抗原(CA72-4)、癌抗原(KMO-1)、膀胱癌関連抗原(SPAN-1)、炭水化物抗原(CA125)、癌抗原(CA15-3)、扁平細胞癌(SCC)、セミノ蛋白(γ -Sm)、前立腺特異抗原(PA)、フェリチン、組織ポリペ
5 プチド抗原(TPA)、腫瘍関連抗原(CYFRA-21-1)、免疫酸性蛋白(IAP)、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白(PAP)、ニューロン特異的エノラーゼ(NSE)、絨毛性ゴナドトロピン(hCG)、酵素、アミノ酸(特に、Ala、Glu)、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類等の中から選択することができる。
10

メラノーママーカーの検出には、特異性や感度を考慮して、各種のメラノーマ抗体を用いることができる。メラノーマ抗体としては、悪性黒色腫特異性の高い抗体であればいずれのものであってもよい。病変部に貼付することによって、組織、血液、あるいは細胞等を剥離固定または
15 吸着固定した本発明の診断用デバイス構造体は、前記抗体を用いたEIA法、各種標識粒子(ラテックス、金コロイド等)を用いた免疫測定法及び蛍光免疫測定法を用いることにより、組織、血液、あるいは細胞中の腫瘍マーカーの有無を細胞染色の形で検出することができる。また、5-S-システイニルドーパの場合、本発明の診断用デバイス構造体の
20 検出用部材をホルムアルデヒドガスで処理した後、蛍光顕微鏡を用いて検出することができる。その場合、判定は、染色された細胞の色の濃さ及びその数により定性的に行うことができる。また、上記の方法以外のいずれの公知の検出方法を用いても、本発明のデバイス構造体により吸着固定させた組織、細胞、蛋白質、ペプチド等を測定することができる。
25 以下に実験例に基づいて本発明の実施例、比較例をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。実験例1～

3 においては診断用デバイスに使用する検出用部材の蛋白質に対する吸着特性、拡散性及び電場における保持性能について検討した。実験例 4 では、実験例 1 ～ 3 において診断用デバイスの検出用部材を選択し、乳癌腫瘍マーカーであるヒト癌胎児性抗原（ヒト C E A）に対する免疫学的染色法による染色性能に及ぼす影響について評価した。さらに、実験例 5 では本発明の診断用イオントフォーシスデバイスを用いて乳癌腫瘍マーカーであるヒト C E A の皮膚からの検出について検討した。また、牛血清アルブミン（B S A、シグマ社製）、ヒトインスリン（シグマ社製）及びヒト C E A（生化学工業）を代表的な蛋白質、ペプチド及び診断用マーカー例とした。

（実験例 1）

診断用デバイスにおける検出用部材の特性を評価するために、各種素材からなる多孔質膜を選択して蛋白質に対する吸着特性を検討した。なお、蛋白質の吸着量は、代表的な蛋白質を用いて簡便に測定できる慣用の方法、 ^{125}I で標識した牛血清アルブミン（ ^{125}I - B S A、 0.827 mCi/mg 、I C N P h a r m a c e u t i c a l I n c.）あるいはヒトインスリン（ $0.912\text{ }\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 、I C N P h a r m a c e u t i c a l I n c.）をトレーサー量含有する溶液（蛋白質濃度として 1 mg/ml リン酸塩緩衝液） $400\text{ }\mu\text{l}$ に 1.3 cm^2 の各種検出用部材を室温下、90 分間浸漬した後、リン酸塩緩衝液で洗浄し、残存放射活性をγ-カウンターで測定することにより算出した。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例 1：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

25 実施例 2：ナイロン膜（ポール社製、バイオダイナ A）

実施例 3：疎水性ポリビニリデンジフルオライド（P V D F）膜（バイ

オラッド社製；P V D F メンブレン)

比較例 1：親水性ポリビニリデンジフルオライド (P V D F) 膜 (ミリポア社製；親水性デュラポア)

5 なお、疎水性 P V D F 膜に関しては、試験前に親水処理として 100% メタノールに数秒間浸潤させ、その後リン酸塩緩衝液に浸潤させた。

第 2 図は、実施例 1 ~ 3 および比較例 1 において、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミン (B S A) の吸着性を示すグラフである (平均 ± 標準偏差、 $n = 3$)。また第 3 図は、同様に実施例 1 ~ 3 および比較例 1 において、診断用デバイスに使用する検出用
10 部材に対するヒトインスリンの吸着性を示すグラフである (平均 ± 標準偏差、 $n = 3$)。B S A の吸着量は、第 2 図に示すように、実施例 1 では約 $80 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 、実施例 2 では約 $50 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 、実施例 3 では約 $170 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ であった。また、蛋白質低吸着性の部材として用いた比較例 1 では $5 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 以下であった。一方、ヒトインスリン
15 の吸着量は、第 3 図に示すように、実施例 1 では約 $100 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 、実施例 2 では約 $80 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 、実施例 3 では約 $150 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ であった。また、比較例 1 では $5 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ 以下であった。ニトロセルロース、ナイロン、疎水性 P V D F は代表的な蛋白質及びペプチドである B S A やヒトインスリンに対して高吸着能を示した。

20 (実験例 2)

次に、各種検出用部材における各蛋白質の拡散性を検討した。実験例 1 と同様な方法で、すなわち ^{125}I で標識した B S A をトレーサー量含有する溶液 (蛋白質濃度として $1 \text{mg} / \text{ml}$ リン酸塩緩衝液) $400 \mu\text{l}$ に 1.3cm^2 の各種検出用部材を室温下、90 分間浸漬した後、リン
25 酸塩緩衝液で洗浄し、残存放射活性を γ-カウンターで測定した。その後、さらにリン酸塩緩衝液 1ml 中に 24 時間浸潤させ、同様に残存

する放射活性をγ-カウンターに測定した。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例4：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

5 実施例5：ナイロン膜（ポール社製、バイオダインA）

実施例6：疎水性 PVDF 膜（バイオラッド社製；PVDF メンブレン）

比較例2：親水性 PVDF 膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性 PVDF 膜に関しては上記実験例1と同様に試験前に親

10 水処理を行った。

実施例4～6および比較例2で得られた結果を表1に示す。

表1

実験例2	初期吸着量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		24時間後の残存吸着量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差
実施例4	83.97	1.45	80.71	1.47
実施例5	55.16	1.51	50.99	1.77
実施例6	138.56	7.39	137.20	7.33
比較例2	1.22	0.11	0.60	0.14

表1は、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミンの拡散性を示すものである（平均±標準偏差、 $n=3$ ）。表1に示すように、実施例4、5、6では、それぞれ24時間後の吸着量の減少はほとんど認められず、吸着した蛋白質は溶液中において拡散しないことが確認された。また、比較例2では、初期吸着はほとんど認められなかったが、24時間後には吸着量はさらに減少した。

20 （実験例3）

また、診断用デバイスにおける検出用部材の吸着性能、特に電場にお

- ける特性について検討した。代表的な蛋白質としてBSA、ヒトインスリン、さらに診断用マーカーのひとつとしてヒトCEAを用いて各種検出用部材の電場における吸着性能について評価した。BSA、ヒトインスリン、ヒトCEAについて、100～150Vでラウリル硫酸ナトリウム（SDS）-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（10～25%ポリアクリルアミドグラジェントゲルを使用）を行った。なお、各蛋白質の電気泳動適用量は2.5 μ gとした。電気泳動後のゲルに実施例および比較例に示す転写膜を2枚重ね、さらに3枚目にサポート膜としてと
- 10 してニトロセルロース膜を置き150mA、3時間転写した。転写された蛋白質はアミドブラック染色液で染色した。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例7：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

実施例8：ナイロン膜（ポール社製、バイオダイナA）

- 15 実施例9：疎水性PVDF膜（バイオラッド社製；PVDFメンブレン）

比較例3：親水性PVDF膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性PVDF膜に関しては上記実験例1及び2と同様に試験前に親水処理を行った。

実施例7～9および比較例3で得られた結果を表2に示す。

20

表2

実験例3	BSA			ヒトインスリン			ヒトCEA		
	転写膜 (1)	転写膜 (2)	サポート膜	転写膜 (1)	転写膜 (2)	サポート膜	転写膜 (1)	転写膜 (2)	サポート膜
実施例7	◎	△	×	◎	△	△	○	×	×
実施例8	◎	○	△	○	△	△	△	×	×
実施例9	◎	×	×	◎	×	×	○	×	×
比較例3	×	×	◎	×	×	◎	×	×	○

表2は、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミン、ヒトインスリン及びヒト癌胎児性抗原の電場における保持能力を示すものである。表2に示すように、BSA（分子量；約6万）において、実施例7～9では転写膜（1）で主に保持され、転写膜（2）ではわずかに検出される程度であった。ヒトインスリン（分子量；約6000）においても、BSAと同様な傾向を示し、転写膜（1）で主に保持され、転写膜（2）ではわずかに検出される程度であった。さらにヒトCEA（分子量；約18万）においては、転写膜（1）で保持され、転写膜（2）では検出されなかった。一方、比較例3では電場をかけることで、BSA、ヒトインスリンおよびヒトCEAは転写膜上を通過して全く吸着保持されなかった。このように、ニトロセルロース、ナイロン、疎水性PVDFは何れの蛋白質及びペプチドに対しても高い吸着性、低い拡散性及び電場においても強い保持能力を示した。

（実験例4）

次に、ヒトCEAの免疫学的染色に及ぼす各種検出用部材の影響について検討した。それぞれ、ヒトCEA 0.1、1.0、10ngを各種検出用部材に滴下し、乾燥固定後、以下のような免疫学的染色を行った。ヒトCEAを固定した各種検出用部材をブロッキング操作した後、一次抗体溶液（マウス抗ヒトCEAモノクローナル抗体、クローンEB-016、日本バイオテスト研究所）に浸潤した。ほう酸緩衝液で洗浄後、ビオチン標識二次抗体溶液（ビオチン標識抗マウスIgF（ab'）₂、DAKO JAPAN Co.、Ltd.）に浸潤した。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン溶液（生化学工業）に浸し、ほう酸緩衝液で洗浄後、基質としてDAB（diaminobenzidine tetrahydrochloride）を用いて、発色させた。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例 10：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

実施例 11：ナイロン膜（ポール社製、バイオダイナ A）

5 実施例 12：疎水性 P V D F 膜（バイオラッド社製；P V D F メンブレン）

比較例 4：親水性 P V D F 膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性 P V D F 膜に関しては上記実験例 1 及び 2 と同様に試験前に親水処理を行った。

実施例 10～12 および比較例 4 で得られた結果を表 3 に示す。

10

表 3

実験例 4	ヒト C E A の染色性		
	0.1ng	1ng	10ng
実施例 10	△	○	◎
実施例 11	△	○	◎
実施例 12	×	△	○
比較例 4	×	×	×

表 3 は、ヒト癌胎児性抗原（ヒト C E A）に対する免疫学的染色法による染色性能に及ぼす各検出用部材の影響について示すものである。表 3 に示すように、実施例 10、11 では 1 n g 以上のヒト C E A が検出
15 可能であった。実施例 12 では 10 n g 以上のヒト C E A が検出可能であったが、1 n g 以下では検出されなかった。また、比較例 4 では全く染色されず、免疫染色の操作過程において流出したものと思われる。

（実験例 5）

20 本発明に係るデバイスを用いて、ヒト C E A の皮膚からの検出についてインビトロにおいて検討した。なお、モデル皮膚としてユカタンマイクロピッキングの表皮シートを使用した。角質層側に診断用デバイス（陽極、

- 銀電極)を適用し、真皮側にヒトCEA ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、リン酸塩緩衝液 ($\text{pH} = 7.4$))を添加した不織布層を配置し、さらに対照電極(陰極、塩化銀電極)を当接させた。また、診断用デバイスの検出用部材としては、高吸着能、低拡散性、高保持能及び高染色性を示すナイロン膜(ポール社製、バイオダイナ)を用いた。通電は周波数 50 kHz 、オン/オフ比 50% のパルス直流電圧で $0.5 \text{ mA}/\text{cm}^2$ 、1時間行った。免疫学的検出は上記実験例4と同様の染色方法により行った。また、ヒトCEA 0.1 、 1.0 、 10 ng を検出用部材に滴下し、基準値とした。
- 5 実施例13：ヒトCEAを添加し、イオントフォレーシスを施した場合
比較例5：ヒトCEAを添加し、イオントフォレーシスを施さなかった場合
比較例6：リン酸塩緩衝液だけでイオントフォレーシスを施した場合
実施例13および比較例5、6で得られた結果を表4に示す。

15

表4

実験例5	染色性	検出されたヒトCEA濃度
実施例13	○	10 ng 以上
比較例5	×	0.1 ng 以下
比較例6	×	0.1 ng 以下

20

表4は、本発明の診断用イオントフォレーシスデバイスを用いてヒト癌胎児性抗原(ヒトCEA)の皮膚から検出されたヒトCEA濃度と染色性について示すものである。また第4図(a)～(d)は、検出用部材におけるヒト癌胎児性抗原(ヒトCEA)の免疫学的染色の結果を示す図である。表4および第4図(a)～(d)に示すように、実施例13では検出用部材の数箇所にヒトCEAが検出され、基準値と比較して検出量を判定すると 10 ng 以上のヒトCEAが検出された。ユカタン

マイクロピグ表皮内の毛穴や汗腺等を通してヒトCEAは検出用部材上に誘導されたと思われる染色結果であった。一方、比較例5、6ではヒトCEAは検出されなかった（基準値0.1ng以下）。このように、皮膚を介した場合においても腫瘍マーカーは検出され、本診断用デバイス

5 ス構造及び染色方法の有用性が示された。

このように、本発明により提供されるイオントフォレーシスを用いたデバイス構造体は、腫瘍等の診断に有用である。本発明のデバイス構造体を使用すると、皮膚又は粘膜表面の外科的な切除または穿刺吸引を必要とせず、患者に痛みを与えず極めて容易に短時間で試料を採取することが
10 できる。そのため、皮膚癌、口腔癌、乳癌及び直腸癌等の腫瘍の集団検診も可能となる。さらに、外科的処置等に起因すると考えられる再発例を減少させることができる。また、本発明のデバイス構造体を用いることにより、判断が困難な極初期の腫瘍についても腫瘍関連抗原、腫瘍関連マーカーまたはその他の腫瘍関連物質の有無を確認することが
15 き、腫瘍の早期診断が可能となる。さらに、本発明のデバイス構造体によれば、皮膚又は粘膜表面の組織、細胞、あるいはそれらから分泌される物質またはその他の物質を検出用部材に吸着固定して、それを直接試料として使用することができるので、従来技術に比べて迅速かつ容易に診断を行うことができ、経済的にも有用である。

20

産業上の利用可能性

本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体及び検出方法は生体内成分を迅速かつ高感度に検出するのに有用であり、医療分野のイオントフォレーシスに用いるのに適している。

25

請求の範囲

1. イオントフォレーシス用の電極と、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材と、前記電極と前記検出用部材の間に配置された導電層とを含むことを特徴とするイオントフォレーシスデバイス構造体。
2. 前記検出用部材が多孔質膜からなることを特徴とする請求の範囲第1項記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
3. 前記検出用部材の蛋白質吸着能が 1 cm^2 当たり $20\text{ }\mu\text{g}$ 以上であることを特徴とする請求の範囲第1項又は第2項記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
4. 前記検出用部材の厚さが $5\sim 200\text{ }\mu\text{m}$ であることを特徴とする請求の範囲第1項～第3項のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
5. 前記検出用部材が生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つを吸着するよう構成されたことを特徴とする請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
6. 前記検出用部材が生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つから分泌される物質を吸着するよう構成されたことを特徴とする請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
7. 前記分泌される物質がペプチド又は蛋白質であることを特徴とする請求の範囲第6項記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
8. 前記検出用部材が腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質を吸着するよう構成されたことを特徴とする請求の範囲第1項～第4項のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

9. 前記腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質が、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（NK1/C3）、メラノーママーカー（PAL/M1）、メラノーママーカー（S-100 α 及び β ）、癌胎児性抗原（CEA）、神経芽腫（CE7）、神経芽腫（AD2）、
- 5 マリグニン、 α -胎児性蛋白（AFP）、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白（BFP）、膀胱癌胎児性抗原（POA）、胎児性プレアルブミン（EPa）、炭水化物抗原（CA19-9）、膀胱癌関連抗原（CA50）、癌抗原（CSLEX-1）、膀胱癌関連抗原（シアリルSSEA-1）、膀胱癌関連抗原（Dupan-2）、癌抗原（NCC-ST-439）、
- 10 炭水化物抗原（シアリルTn）、癌抗原（CA72-4）、癌抗原（KMO-1）、膀胱癌関連抗原（SPan-1）、炭水化物抗原（CA125）、癌抗原（CA15-3）、扁平細胞癌（SCC）、セミノ蛋白（ γ -Sm）、前立腺特異抗原（PA）、フェリチン、組織ポリペプチド抗原（TPA）、腫瘍関連抗原（CYFRA-21-1）、免疫酸性蛋白
- 15 （IAP）、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白（PAP）、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）、絨毛性ゴナドトロピン（hCG）、酵素、アミノ酸、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類からなる群から選択されるものであることを特徴とする請求の範囲第8項記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
- 20 10. くぼみを有するバックングと、前記バックングのくぼみ底部に配置された電極と、前記バックングのくぼみ上部に配置された生体内成分検出用部材と、前記電極と前記生体内成分検出用部材間に配置された導電層とを備えたことを特徴とするイオントフォレーシス用アプリケーション。
- 25 11. 前記生体内成分検出用部材に対応する部分に開口を有する粘着性シートを備えたことを特徴とする請求の範囲第11項記載のイオントフ

ォレーシス用アプリーケーター。

12. イオントフォレーシスを用いて生体内成分を検出用部材に吸着させ、前記検出用部材に吸着された生体内成分を免疫学的方法または化学的方法により検出することを特徴とする生体内成分の検出方法。

5 13. 前記検出が前記生体内成分の染色または測定により行われることを特徴とする請求の範囲第12項記載の生体内成分の検出方法。

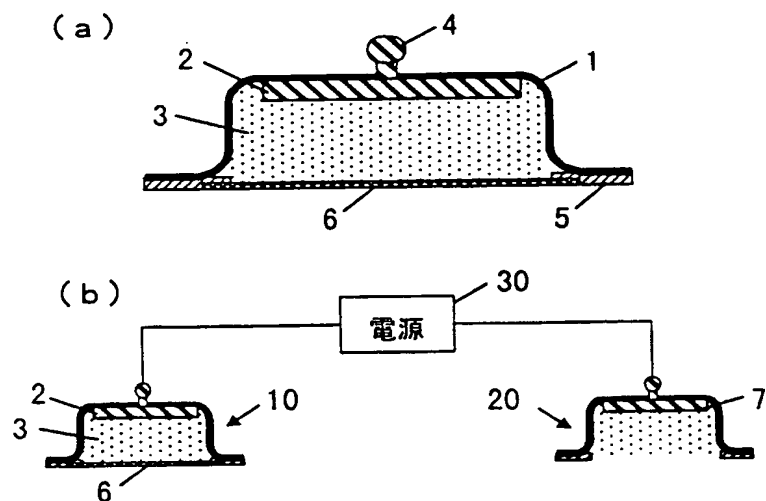
14. イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材、デバイス用電極、及び前記デバイス用電極と検出用部材の間に配置された導電層を含むイオントフォレーシスデバイスと、前記
10 デバイス用電極に対応して設けられる対照電極を含む対照デバイスと、前記デバイス用電極と前記対照電極との間を電氣的に接続する電源とを備えたことを特徴とするイオントフォレーシスシステム。

15 15. 前記検出用部材は、平均孔径0.001～20 μ mの多孔質構造を有することを特徴とする請求の範囲第14項記載のイオントフォレーシスシステム。

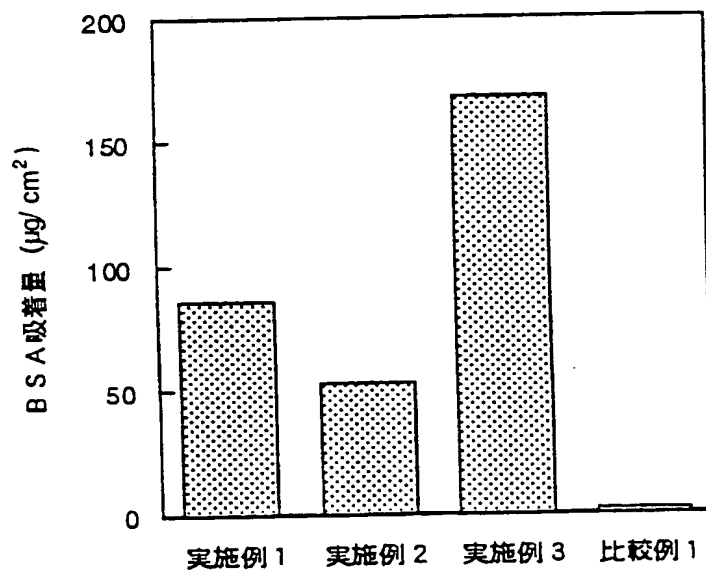
THIS PAGE BLANK (USPTO)

1 / 2

第 1 図



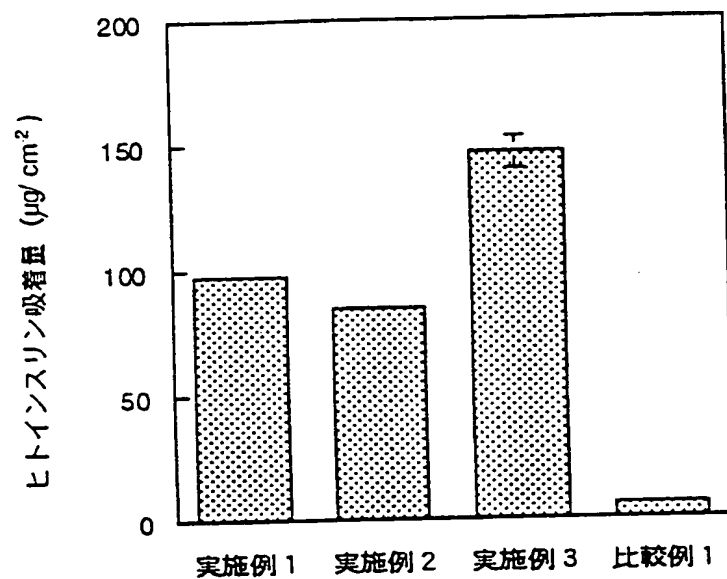
第 2 図



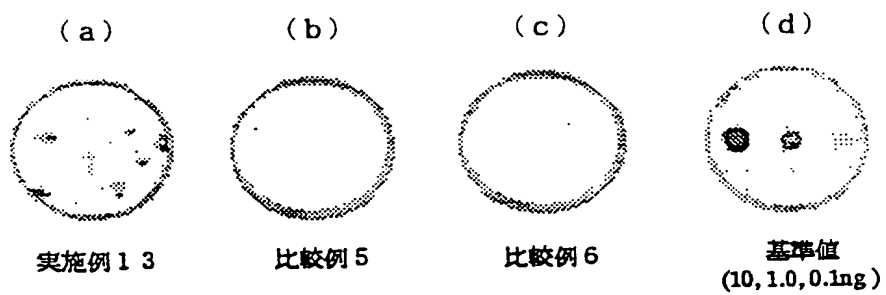
THIS PAGE BLANK (USPTO)

2 / 2

第 3 図



第 4 図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP99/02623

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁶ A61B5/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁶ A61B5/14, A61N1/30		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1999 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1999 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1999		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, 96/00109, A1 (CYGNUS INC), 4 January, 1996 (04. 01. 96) & JP, 10-505761, A	1-10, 14, 15
A	WO, 96/00110, A1 (CYGNUS INC), 4 January, 1996 (04. 01. 96) & JP, 10-506293, A	1-10, 14, 15
A	JP, 9-248344, A (Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc.), 22 September, 1997 (22. 09. 97) & WO, 9734657, A1	1-10, 14, 15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 10 August, 1999 (10. 08. 99)		Date of mailing of the international search report 17 August, 1999 (17. 08. 99)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/02623

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 12, 13

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 12 and 13 state methods including the step of causing a detecting member to absorb an in-vivo component. Therefore, the subject matters of claims 12 and 13 relate to diagnostic methods practiced on the human body.

2. ☒ Claims Nos.: 11

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claim 11 refers to claim 11 itself and is inadequate.

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.[°] A 61 B 5 / 00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.[°] A 61 B 5 / 14, A 61 N 1 / 30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-1999年
日本国登録実用新案公報	1994-1999年
日本国実用新案登録公報	1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 96/00109, A1 (CYGNUS INC) 4. 1月. 1996 (04. 01. 96) & JP, 10-505761, A	1-10, 14, 15
A	WO, 96/00110, A1 (CYGNUS INC) 4. 1月. 1996 (04. 01. 96) & JP, 10-506293, A	1-10, 14, 15
A	JP, 9-248344, A (久光製薬株式会社) 22. 9月. 1997 (22. 09. 97) & WO, 9734657, A1	1-10, 14, 15

☐ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 08. 99

国際調査報告の発送日

17.08.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小田倉 直人 印

2W

9163

電話番号 03-3581-1101 内線 3290

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 12、13 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲12、13は、生体内成分を検出用部材に吸着させる工程を含んでいること等から判断して、人の診断方法と認められる。
2. ☒ 請求の範囲 11 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
請求の範囲11は、請求の範囲11自身を引用しており、不適切である。
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

PCT

EP



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
〔PCT 18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 HM980003PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/02623	国際出願日 (日.月.年) 19.05.99	優先日 (日.月.年) 05.06.98
出願人 (氏名又は名称) 久光製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT 18条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 1 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (PCT 17 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 12、13 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲 12、13 は、生体内成分を検出用部材に吸着させる工程を含んでいること等から判断して、人の診断方法と認められる。
2. ☒ 請求の範囲 11 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
請求の範囲 11 は、請求の範囲 11 自身を引用しており、不適切である。
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ A 61 B 5 / 00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ A 61 B 5 / 14, A 61 N 1 / 30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 — 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 — 1 9 9 9 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 — 1 9 9 9 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 — 1 9 9 9 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 96/00109, A1 (CYGNUS INC) 4. 1月. 1996 (04. 01. 96) & JP, 10-505761, A	1-10, 14, 15
A	WO, 96/00110, A1 (CYGNUS INC) 4. 1月. 1996 (04. 01. 96) & JP, 10-506293, A	1-10, 14, 15
A	JP, 9-248344, A (久光製薬株式会社) 22. 9月. 1997 (22. 09. 97) & WO, 9734657, A1	1-10, 14, 15

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 08. 99

国際調査報告の発送日

17.08.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小田倉 直人 印

2W

9163

電話番号 03-3581-1101 内線 3290

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 27 January 2000 (27.01.00)	
International application No. PCT/JP99/02623	Applicant's or agent's file reference HM980003PCT
International filing date (day/month/year) 19 May 1999 (19.05.99)	Priority date (day/month/year) 05 June 1998 (05.06.98)
Applicant HIGO, Naruhito et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

24 December 1999 (24.12.99)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Sean Taylor

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TANAKA, Kiyoshi
Yebisu Garden Terrace Nibankan 709
20-2, Yebisu 4-chome
Shibuya-ku, Tokyo 150-0013
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 09 July 1999 (09.07.99)	
Applicant's or agent's file reference HM980003PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP99/02623	International filing date (day/month/year) 19 May 1999 (19.05.99)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 05 June 1998 (05.06.98)
Applicant HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC. et al	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
05 June 1998 (05.06.98)	10/174024	JP	09 July 1999 (09.07.99)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer Juan Cruz Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--

THIS SIDE BLANK (USPTO)

In the detecting method of a physiological substance according to the present invention, a physiological substance is adsorbed onto the member for detection using the iontophoresis and the physiological substance adsorbed onto the member for this detection are detected by an immunological or chemical method. Such detection is performed by staining or measuring of the physiological substance.

The iontophoresis system according to the present invention is configured by being provided with a member for detection which is constituted so as to adsorb a physiological substance by iontophoresis, electrodes for a device, an iontophoresis device containing a conductive layer arranged between the electrodes for the device and the member for detection, a control device containing reference electrodes set corresponding to the electrodes for the device, and a power source connecting electrically between the above described electrodes for the device and reference electrodes. Herein, the member for detection, for example, has a porous structure of the average pore size of 0.001-20 μ m.

From the above system, the iontophoresis device of the present invention can detect the physiological substance rapidly and in high sensitivity, being extremely useful for diagnoses of various diseases.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 (a) is a cross section showing an example of an applicator provided with an iontophoresis device structure

THIS PAGE BLANK (USPTO)

for detection of a physiological substance.

11. The applicator for the iontophoresis according to claim 11, further comprising an adhesive sheet having a opening in a part corresponding to said member for detection of a
5 physiological substance.

12. A method for detecting physiological substances comprising the steps of: adsorbing a physiological substance onto a member for detection using an iontophoresis; and detecting a physiological substance adsorbed onto said member for detection
10 by an immunological or chemical method.

13. The method for detecting physiological substances according to claim 12, said detection is performed by staining or measuring of said physiological substance.

14. An iontophoresis system comprising: an iontophoresis
15 device including a member for detection which is constituted so as to adsorb a physiological substance by an iontophoresis, an electrode for a device, and a conductive layer arranged between the electrode for the device and the member for detection; a reference device including a reference electrode corresponding
20 to the electrode for the device; and a power source connecting electrically between the electrode for the device and the reference electrode.

15. The iontophoresis system according to claim 14, said member for detection has a porous structure having an average pore size
25 of 0.001-20 μ m.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4T
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference HM980003PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/02623	International filing date (day/month/year) 19 May 1999 (19.05.99)	Priority date (day/month/year) 05 June 1998 (05.06.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61B 5/00		
Applicant HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 24 December 1999 (24.12.99)	Date of completion of this report 13 April 2000 (13.04.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/02623

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-6,8-22, as originally filed,
pages 7, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-10,13-15, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. 11,12, filed with the demand,
Nos. _____, filed with the letter of _____,
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/2-2/2, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/02623

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-11,14,15	YES
	Claims	12,13	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-11,14,15	YES
	Claims	12,13	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-11, 14 and 15

The placement of a conductive layer between the electrode and detecting member in the structural body of an iontophoresis device used in medical diagnosis and testing is not described in any of the documents cited in the international search report and is not obvious to persons skilled in the art.

Claims 12 and 13

Document 1 [WO, 96/00109, A1 (Cygnus Inc.)...] and document 2 [WO, 96/00110, A1 (Cygnus Inc.)...] cited in the international search report describe a substance sampling method for collecting and analyzing substances or metabolic products from beneath the skin using iontophoresis.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特 許 協 力 条 約

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 01 MAY 2000

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 HM980003PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/02623	国際出願日 (日.月.年) 19.05.99	優先日 (日.月.年) 05.06.98
国際特許分類(IPC) Int. Cl ¹ A 61 B 5 / 00		
出願人(氏名又は名称) 久光製薬株式会社		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で 3 ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☐ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 24.12.99	国際予備審査報告を作成した日 13.04.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 小田倉 直人 印	2W 9163
電話番号 03-3581-1101 内線		3290

様式PCT/IPEA/409(表紙)(1994年1月)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とする)

☐ 出願時の国際出願書類

<input checked="" type="checkbox"/> 明細書	第	1-6, 8-22	ページ、	出願時のもの
明細書	第	7	ページ、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書	第		ページ、	付の書簡と共に提出されたもの
明細書	第		ページ、	付の書簡と共に提出されたもの

<input checked="" type="checkbox"/> 請求の範囲	第	1-10, 13-15	項、	出願時に提出されたもの
請求の範囲	第		項、	PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲	第	11, 12	項、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲	第		項、	付の書簡と共に提出されたもの
請求の範囲	第		項、	付の書簡と共に提出されたもの

<input checked="" type="checkbox"/> 図面	第	1/2-2/2	ページ/図、	出願時に提出されたもの
図面	第		ページ/図、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面	第		ページ/図、	付の書簡と共に提出されたもの
図面	第		ページ/図、	付の書簡と共に提出されたもの

2. 補正により、下記の書類が削除された。

<input type="checkbox"/> 明細書	第		ページ
<input type="checkbox"/> 請求の範囲	第		項
<input type="checkbox"/> 図面	第		ページ/図

3. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見(必要ならば)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲	1-11, 14, 15	有
請求の範囲	12, 13	無

進歩性 (IS)

請求の範囲	1-11, 14, 15	有
請求の範囲	12, 13	無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲	1-15	有
請求の範囲		無

2. 文献及び説明

請求の範囲 1-11, 14, 15

医療分野の診断又は検査に用いるイオントフォレーシスデバイス構造体において、電極と検出用部材の間に導電層を配置することは、国際調査報告で引用された何れの文献にも記載されておらず、当業者にとっても自明のものでもない。

請求の範囲 12, 13

国際調査報告で引用された文献1 (WO, 96/00109, A1 (CYGNUS INC) ...) 及び文献2 (WO, 96/00110, A1 (CYGNUS INC) ...) には、イオントフォレーシスを用いて皮膚の下から物質または代謝産物を収集・分析する物質のサンプリング方法が記載されている。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

のである。

本発明に係るイオントフォレーシス用アプリーケーターは、くぼみを有するバックリングと、バックリングのくぼみ底部に配置された電極と、バックリングのくぼみ上部に配置された生体内成分検出用部材と、電極と生体内成分検出用部材間に配置された導電層とを備えて構成される。生体内成分検出用部材に対応する部分には、開口を有する粘着性シートが備えられる。

本発明に係る生体内成分の検出方法では、イオントフォレーシスを用いて検出用部材に吸着させた生体内成分を、免疫学的方法または化学的方法により検出する。この検出は、生体内成分の染色または測定により行われる。

本発明に係るイオントフォレーシスシステムは、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材、デバイス用電極、及びデバイス用電極と検出用部材の間に配置された導電層を含むイオントフォレーシスデバイスと、デバイス用電極に対応して設けられる対照電極を含む対照デバイスと、上述のデバイス用電極と対照電極との間を電氣的に接続する電源とを備えて構成される。ここで検出用部材は、例えば、平均孔径 $0.001 \sim 20 \mu\text{m}$ の多孔質構造を有するものである。

これにより本発明のイオントフォレーシスデバイスは、生体内成分を迅速かつ高感度に検出することができ、各種病気の診断に極めて有用である。

図面の簡単な説明

第1図(a)は、本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体を備えたアプリーケーターの一例を示す断面図、(b)は本発明に係るイ

THIS PAGE BLANK (USPTO)

9. 前記腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質が、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（NKI/C3）、メラノーママーカー（PAL/M1）、メラノーママーカー（S-100 α 及び β ）、癌胎児性抗原（CEA）、神経芽腫（CE7）、神経芽腫（AD2）、
- 5 マリグニン、 α -胎児性蛋白（AFP）、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白（BFP）、膀胱癌胎児性抗原（POA）、胎児性プレアルブミン（EP A）、炭水化物抗原（CA19-9）、膀胱癌関連抗原（CA50）、癌抗原（CSLEX-1）、膀胱癌関連抗原（シアリルSSEA-1）、膀胱癌関連抗原（Dupan-2）、癌抗原（NCC-ST-439）、
- 10 炭水化物抗原（シアリルTn）、癌抗原（CA72-4）、癌抗原（KMO-1）、膀胱癌関連抗原（SPan-1）、炭水化物抗原（CA125）、癌抗原（CA15-3）、扁平細胞癌（SCC）、セミノ蛋白（ γ -Sm）、前立腺特異抗原（PA）、フェリチン、組織ポリペプチド抗原（TPA）、腫瘍関連抗原（CYFRA-21-1）、免疫酸性蛋白
- 15 （IAP）、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白（PAP）、ニューロン特異的エノラーゼ（NSE）、絨毛性ゴナドトロピン（hCG）、酵素、アミノ酸、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類からなる群から選択されるものであることを特徴とする請求の範囲第8項記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。
- 20 10. くぼみを有するバッキングと、前記バッキングのくぼみ底部に配置された電極と、前記バッキングのくぼみ上部に配置された生体内成分検出用部材と、前記電極と前記生体内成分検出用部材間に配置された導電層とを備えたことを特徴とするイオントフォレーシス用アプリケーション。
- 25 11. 前記生体内成分検出用部材に対応する部分に開口を有する粘着性シートを備えたことを特徴とする請求の範囲第10項記載のイオントフ

THIS PAGE BLANK (USPTO)

オレーシス用アプリケーション。

(補正後)

12. イオントフォレーシスを用いて検出用部材に吸着させた生体内成分を、免疫学的方法または化学的方法により検出することを特徴とする生体内成分の検出方法。
- 5 13. 前記検出が前記生体内成分の染色または測定により行われることを特徴とする請求の範囲第12項記載の生体内成分の検出方法。
- 10 14. イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材、デバイス用電極、及び前記デバイス用電極と検出用部材の間に配置された導電層を含むイオントフォレーシスデバイスと、前記デバイス用電極に対応して設けられる対照電極を含む対照デバイスと、前記デバイス用電極と前記対照電極との間を電氣的に接続する電源とを備えたことを特徴とするイオントフォレーシスシステム。
- 15 15. 前記検出用部材は、平均孔径0.001～20 μm の多孔質構造を有することを特徴とする請求の範囲第14項記載のイオントフォレーシスシステム。

THIS PAGE BLANK (USPTO)